



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201422155 A

(43)公開日：中華民國 103 (2014) 年 06 月 16 日

(21)申請案號：102123923

(22)申請日：中華民國 102 (2013) 年 07 月 04 日

(51)Int. Cl. : *A01N1/00 (2006.01) A01N1/02 (2006.01)*
C12N5/07 (2010.01)

(30)優先權：2012/07/06 美國 61/668,995
2012/07/06 美國 61/668,998
2013/03/27 美國 61/805,875

(71)申請人：艾利國斯生物醫學公司 (美國) ARIGOS BIOMEDICAL, INC. (US)
美國

(72)發明人：史迪芬 范矽可 STEPHEN, VAN SICKLE (US)；瓊斯 塔雅 JONES, TANYA (US)

(74)代理人：陳達仁

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：23 項 圖式數：4 共 41 頁

(54)名稱

以氣體灌注快速冷卻與升溫預防玻璃質化組織受熱-力破壞的方法與裝置

METHOD AND APPARATUS FOR PREVENTION OF THERMO-MECHANICAL FRACTURING IN
VITRIFIED TISSUE USING RAPID COOLING AND WARMING BY PERSUFFLATION

(57)摘要

本發明提供一種以氣體灌注(persufflation)快速冷卻與升溫，藉由減少破裂區域與熱梯度，預防在玻璃質化生化系統的一種破壞，例如受熱-力而破壞的方法與裝置。本發明亦揭露一種以氣體灌注快速冷卻與升溫玻璃質化生物組織的系統，從表面已冷卻的組織大幅降低低溫防護劑(cryoprotectant)的毒性，其中該系統的構造是用於灌注氮氣、氫氣、氖氣、氬氣、氪氣、氙氣、氧氣，或以上各種氣體的混合。該系統可操作在加壓下，相對於大氣壓力下操作，可增加氣體的密度與比熱，並利用一或多個機械行動，以及一種低溫防護氣體或固體的相變化，冷卻氣體。

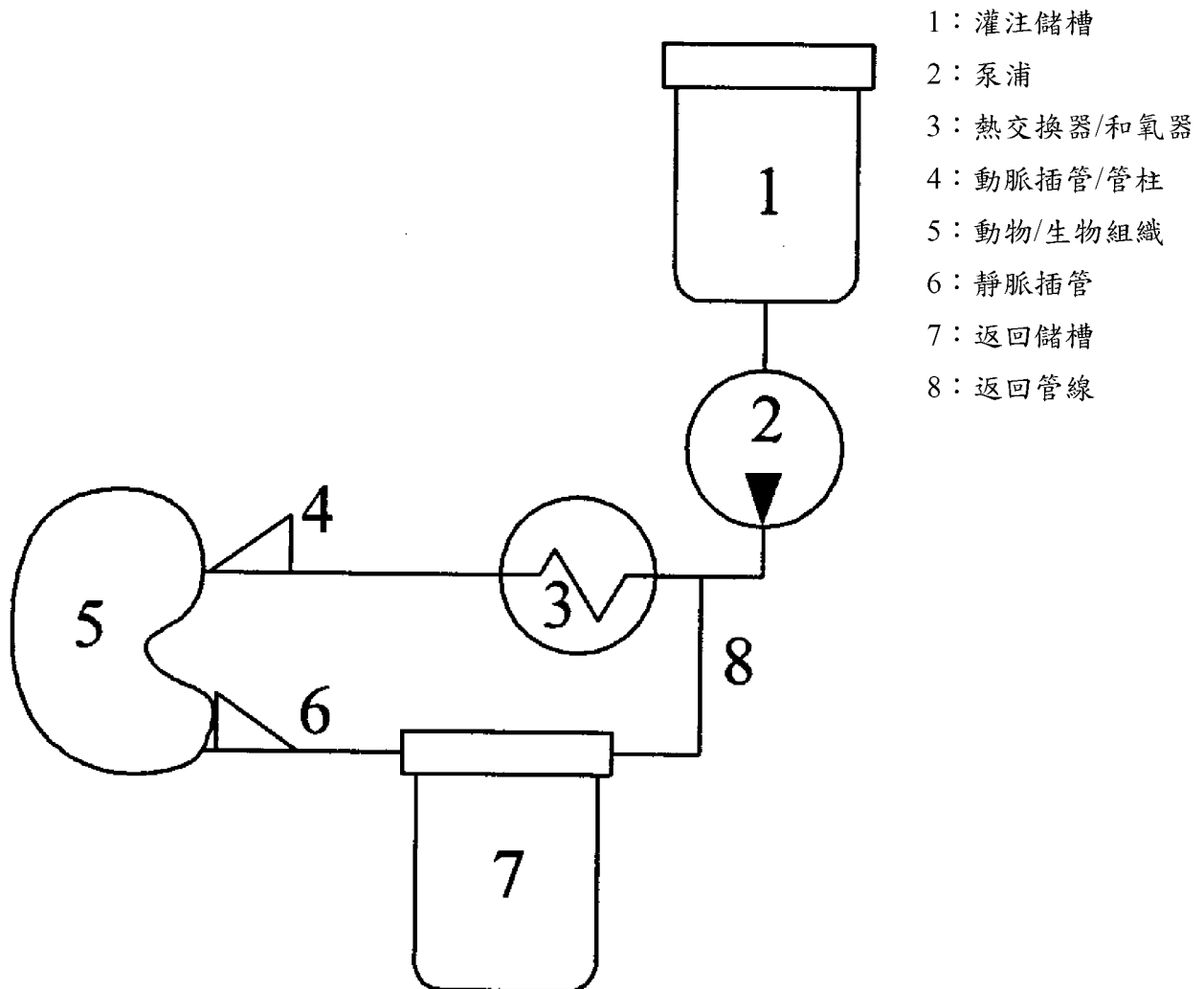


圖1



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201422155 A

(43)公開日：中華民國 103 (2014) 年 06 月 16 日

(21)申請案號：102123923

(22)申請日：中華民國 102 (2013) 年 07 月 04 日

(51)Int. Cl. : *A01N1/00 (2006.01) A01N1/02 (2006.01)*
C12N5/07 (2010.01)

(30)優先權：2012/07/06 美國 61/668,995
2012/07/06 美國 61/668,998
2013/03/27 美國 61/805,875

(71)申請人：艾利國斯生物醫學公司 (美國) ARIGOS BIOMEDICAL, INC. (US)
美國

(72)發明人：史迪芬 范矽可 STEPHEN, VAN SICKLE (US)；瓊斯 塔雅 JONES, TANYA (US)

(74)代理人：陳達仁

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：23 項 圖式數：4 共 41 頁

(54)名稱

以氣體灌注快速冷卻與升溫預防玻璃質化組織受熱-力破壞的方法與裝置

METHOD AND APPARATUS FOR PREVENTION OF THERMO-MECHANICAL FRACTURING IN VITRIFIED TISSUE USING RAPID COOLING AND WARMING BY PERSUFFLATION

(57)摘要

本發明提供一種以氣體灌注(persufflation)快速冷卻與升溫，藉由減少破裂區域與熱梯度，預防在玻璃質化生化系統的一種破壞，例如受熱-力而破壞的方法與裝置。本發明亦揭露一種以氣體灌注快速冷卻與升溫玻璃質化生物組織的系統，從表面已冷卻的組織大幅降低低溫防護劑(cryoprotectant)的毒性，其中該系統的構造是用於灌注氮氣、氫氣、氖氣、氬氣、氪氣、氙氣、氧氣，或以上各種氣體的混合。該系統可操作在加壓下，相對於大氣壓力下操作，可增加氣體的密度與比熱，並利用一或多個機械行動，以及一種低溫防護氣體或固體的相變化，冷卻氣體。

發明摘要

申請日: 102. 7. 04
IPC分類:
A01N 1/00 (2006.01)
A01N 1/02 (2006.01)
C12N 5/07 (2006.01)

【發明摘要】

【中文發明名稱】以氣體灌注快速冷卻與升溫預防玻璃質化組織受熱-力破壞的方法與裝置

【英文發明名稱】METHOD AND APPARATUS FOR PREVENTION OF THERMO-MECHANICAL FRACTURING IN VITRIFIED TISSUE USING RAPID COOLING AND WARMING BY PERSUFFLATION

【中文】本發明提供一種以氣體灌注(persufflation)快速冷卻與升溫，藉由減少破裂區域與熱梯度，預防在玻璃質化生化系統的一種破壞，例如受熱-力而破壞的方法與裝置。本發明亦揭露一種以氣體灌注快速冷卻與升溫玻璃質化生物組織的系統，從表面已冷卻的組織大幅降低低溫防護劑(cryoprotectant)的毒性，其中該系統的構造是用於灌注氮氣、氫氣、氖氣、氬氣、氦氣、氙氣、氧氣，或以上各種氣體的混合。該系統可操作在加壓下，相對於大氣壓力下操作，可增加氣體的密度與比熱，並利用一或多個機械行動，以及一種低溫防護氣體或固體的相變化，冷卻氣體。

【英文】A method and apparatus are disclosed for avoiding fracturing, e.g., thermo-mechanical fracturing, in vitrified biological systems via rapid cooling and/or warming persufflation techniques, by reducing the domain size of fracturing and by reducing thermal gradients. Also disclosed is a system adapted to rapidly cool and warm vitrifiable vascular biological tissue by persufflation, significantly reducing cryoprotectant toxicity from that of surface cooled tissue, in which the system is

constructed and configured to use one or more of helium gas, hydrogen gas, neon gas, argon gas, krypton gas, xenon gas, oxygen gas, or various gaseous compounds. The system can be operated under pressure to increase the density and heat capacity of the gas relative to its density and heat capacity at atmospheric pressure and to cool the gas by one or more of mechanical action and by the phase change of a material such as a cryogenic gas or solid.

【指定代表圖】 圖1

【代表圖之符號簡單說明】

- 1 灌注儲槽
- 2 泵浦
- 3 熱交換器/和氧器
- 4 動脈插管/管柱
- 5 動物/生物組織
- 6 靜脈插管
- 7 返回儲槽
- 8 返回管線

constructed and configured to use one or more of helium gas, hydrogen gas, neon gas, argon gas, krypton gas, xenon gas, oxygen gas, or various gaseous compounds. The system can be operated under pressure to increase the density and heat capacity of the gas relative to its density and heat capacity at atmospheric pressure and to cool the gas by one or more of mechanical action and by the phase change of a material such as a cryogenic gas or solid.

【指定代表圖】 圖1

【代表圖之符號簡單說明】

- 1 灌注儲槽
- 2 泵浦
- 3 熱交換器/和氧器
- 4 動脈插管/管柱
- 5 動物/生物組織
- 6 靜脈插管
- 7 返回儲槽
- 8 返回管線

發明專利說明書

【發明說明書】

【中文發明名稱】以氣體灌注快速冷卻與升溫預防玻璃質化組織受熱-力破壞的方法與裝置

【英文發明名稱】METHOD AND APPARATUS FOR PREVENTION OF THERMO-MECHANICAL FRACTURING IN VITRIFIED TISSUE USING RAPID COOLING AND WARMING BY PERSUFFLATION

【技術領域】

【0001】本發明係關於一種低溫保護(cryopreservation)的裝置與方法。

【0002】本發明主張美國臨時申請案(申請號No.61/805,875，申請日2013年3月27日，發明名稱”Method and apparatus for prevention of thermo -mechanical fracturing in vitrified tissue using rapid cooling and warming by persufflation”)、美國臨時申請案(申請號No.61/668,995，申請日2012年7月6日，發明名稱”Method and apparatus for prevention of thermo-mechanical fracturing in vitrified tissue by composite cryoprotection”)，以及美國臨時申請案(申請號No.61/668,998，申請日2012年7月6日，發明名稱”Rapid cooling of biological systems by gas persufflation under pressure”)的優先權，上述專利的發明說明書，皆併入本文，視為本案說明書的一部分。本發明的內容亦與下列申請案相關：美國臨時申請案(申請號No.61/495,386，申請日2011年6月10日，發明名稱”Method and apparatus for

prevention of thermo-mechanical fracturing in vitrified tissue by composite cryoprotection”),以及美國臨時申請案(申請號No.61/495,391，申請日2011年6月10日，發明名稱” Rapid cooling of biological systems by gas persufflation under pressure”)，上述專利的發明說明書，皆併入本文，視為本案說明書的一部分。

【先前技術】

【0003】 在本發明的相關領域，受捐器官後，在運送至受體的過程，通常需要保存該器官在可用和可移植的狀態下數小時或數天。

【0004】 在實務上，用於移植的受捐器官，其保存大多使用介於0至5度C的超低溫處理(ultra-profound hypothermia)，並結合換血及/或將器官浸於一器官保存溶液中，該溶液具有水、電解質、糖、膠體、緩衝液、自由基去除物、以及新陳代謝前驅物或新陳代謝抑制物。有時候，器官保存液被持續或間歇地灌注於器官。灌注時，可使用或不使用熱交換器及/或和氧器，以控制和支持新陳代謝。有時候使用不同的溶液沖洗器官，在沒有灌注(perfusion)的情況下儲存器官，或者在儲存時灌注器官。上述這些方法常無法保存器官超過三天，且多數(依器官而定)只能保存數小時。

【0005】 習知技術嘗試延長器官的保存時間至數個星期或數個月，但並未成功，因為結冰。在保存精液、細菌、培養細胞，或微小組織時，常常使用低溫防護劑(cryoprotective agents)，其可減少結冰，但無法完全避免結冰。這些保存劑，包括器官溶劑如甘油(glycerol)或二甲基亞砷(dimethylsulfoxide)，是被作用於小的樣品，但並沒有被預期可明

顯改善冷凍器官的保存。

【0006】 過度冷卻保存，其保存溫度略低於0度C，並利用天然的溶質、糖、阻冰劑(ice blockers)，抗凍蛋白(anti-freeze proteins)，減少結冰量，但也未獲得成功。

【0007】 關於複雜的玻璃質化血管器官，已取得某些實驗性的成功。玻璃質化的器官或組織被灌注高濃度的低溫防護劑，在低於水-低溫防護劑混合物的玻璃轉移溫度時，也沒有形成冰。為了避免結冰，將一半或一半以上的水，替換為下列一或多種物質的混合物：有機溶劑(例如甘油或二甲基亞砷)以滲透細胞膜；不滲透細胞膜的物質，例如糖、糖醇(sugar alcohols)、澱粉、蛋白質、聚合物；以及可直接預防從有核區(nucleating sites)結冰的物質，例如阻冰劑(ice blockers)、抗凍蛋白(anti-freeze proteins)。這通常伴隨著在器官血管內灌充逐步增加濃度的低溫防護劑。在兔子腎臟的實驗，腎臟被灌注足夠的低溫防護劑使其玻璃質化，持續存活，且提供腎臟被移植動物體內後的唯一支持。經確認，至少一隻兔子的一個腎臟已經存活下來，且被玻璃質化(vitrified)並冷卻至玻璃轉移溫度。但是此實驗結果被證明難以具有製造的可靠性。

【0008】 另一種器官保存的實驗方法是氣體灌注(persufflation)。氣體灌注是以一種氣體通入一器官的脈管系統(vasculature)，而不是血或其他流體。以氧氣灌注以支持新陳代謝已經取得一些成功，但是並沒有比傳統的器官溶液保存法以及低溫處理法(hypothermia)更好。目前正在試驗以硫化氫(hydrogen sulfide)或一氧化碳(carbon monooxide)氣

體灌注粒線體呼吸(mitochondrial respiration)。也至少有一實驗嘗試以氣體灌注冷卻器官做冷凍儲存，但由於冷凍儲存的固有問題，無法成功。

【0009】氣體灌注的基本問題是對於一器官的保存時間，是否能類似於器官溶液保存法以及低溫處理法(hypothermia)。在另一方面，低於玻璃轉移溫度的玻璃質化，使保存延長至數年或數十年。

【0010】玻璃質化器官與組織具有兩個問題。首先，是在接近或低於玻璃轉移溫度下的熱-力破壞(thermo-mechanical fractures)。第二，低溫防護劑溶液可避免結冰，但卻具有毒性，對器官產生生化損害，使得器官難以復原。

【0011】熱-力破壞是由於組織不同的收縮造成，或由於不同組織的膨脹係數差異或不同低溫防護劑的濃度差異，經由熱梯度差異或其他方式，造成熱-力破壞。許多體積超過數立方公分的玻璃質化組織，幾乎都會出現大範圍的熱-力破壞。

【0012】組織破壞的傾向，會隨著組織尺寸的增大，而呈現等比例的增大。一種建議是，在低於玻璃轉移溫度下儲存，可減少—但實際上無法消除—熱-力破壞。非常接近玻璃轉移溫度，也可能允許成長冰成核點(nucleation point)，在重新升溫(rewarming)時，增加結冰的機率，造成器官很難恢復其活力。此外，在玻璃轉移溫度或接近玻璃轉移溫度，可能會造成器官或其他組織無法長期保存。

【0013】低溫防護劑的毒性破壞，包含但不限於，脫水、薄膜破壞、造成蛋白質(destabilize)或變質(denature)、氧化破壞、新陳代謝分裂(metabolic disruption)。損壞的程度，大概正比於在一既定溫度下的

暴露時間。通常，暴露時間愈長、溫度愈高，則毒性損壞愈大。相反地，快速冷卻可減少暴露時間與溫度，降低毒性損壞。

【0014】此外，具有玻璃質化的組織，存在有臨界冷卻速率(critical cooling rate)，低於此速率會結冰，高於此速率不會結冰。同樣地，當低於臨界升溫速率(critical warming rate)會結冰，高於臨界升溫速率不會結冰。「臨界冷卻速率」與「臨界升溫速率」取決於低溫防護劑或玻璃質化溶液的濃度。因此，增加「臨界冷卻速率」與「臨界升溫速率」可減少低溫防護劑的濃度，有效減少低溫防護劑的毒性。既然低溫防護劑的毒性，隨著濃度呈非線性增加，所以即使小幅度的降低濃度，也可能大幅降低毒性。

【發明內容】

【0015】為了習知技術的需求，本發明提供可行的系統與低溫的方法，以保存組織，使其在復活再生的長期保存期間，不會結冰，也不會產生熱-力破壞。本發明的特色之一，是透過加壓的氣體灌注，使生物系統急速冷卻。藉由增加冷卻及/或生溫速率，使衰減低溫防護劑的毒性；利用非毒性的一氣體，例如氦氣，取代脈管系統(vasculature)中的低溫防護劑。因為減少了暴露於溶液，移除器官脈管系統的低溫防護劑，將可降低毒性。

【0016】當所使用的灌注氣體，其沸點(boiling point)低於水/低溫防護劑(cryoprotectant)溶液的玻璃轉移溫度，可使用一外加物質(extracorporeal)熱交換器，使從「內部」冷卻組織，此與現有表面冷

卻的方法完全不同。

【0017】 如果氣體灌注的壓力，超過一大氣壓，則氣體的密度會增加，冷卻速率會因此增加，並超過習知表面冷卻速率數個量階(orders of magnitude)。當氣體的密度增加(只要不接近該氣體的相變化)，該氣體的黏度不會增加，可維持與原先相同的氣體流量。如此可有效地增加氣體的比熱，並藉由加壓等比例地增加冷卻速率。

【0018】 本發明一實施例的形式，是一種外加灌注系統，其中被灌注的流體是一氣體。達成或實踐上述需求的方式，例如：一氣體或壓力灌注系統，其體積流率為一液體的一百倍以上。系統中可包含一熱交換器，其可以一高速移除熱，使之降溫。此熱交換器可利用一熱發動機(heat engine)或一低溫(cryogenic)流體或固體的蒸發而降溫。

【0019】 本發明實施例提供一方法，可避免玻璃質化生化系統在低溫防護程序中所導致的破壞。本發明一實施例包含一種方法與系統，利用氣體灌注使快速冷卻與升溫，可避免玻璃質化生物系統(例如器官)的熱-力破壞。本發明另一實施例包含一種程序與裝置，利用氣體灌注使快速冷卻後再快速升溫，避免玻璃質化組織的熱-力破壞。該程序與裝置也可利用氣體灌注使在快速升溫前快速冷卻，避免玻璃質化組織的熱-力破壞。

【0020】 本發明的特徵之一，是提供一系統，可避免保存的玻璃質化生化組織，例如器官或整個有機體，產生破壞。藉此，此被保存的生化組織，可在未受損傷的條件下被搬動，而移植。

【0021】 根據本發明的一實施例，提供一種簡化的氣體灌注系統。它的元件可包含：一或多個灌注流體(perfusate)儲槽，用於提供灌注所

需的流體；一泵浦，取代心臟，有效地運送流體；一熱交換/和氧器(oxygenator)，使流體升溫或冷卻，並提供氧合作用或其他氣體，以減少新陳代謝；一動脈插管或其他管柱，可藉以進入器官或一動物或其他生物組織的脈管系統的動脈；一靜脈插管，用於回收流體；一返回儲槽；一返回管線。

【0022】本發明實施例所述的特徵或其組合，皆屬於本發明的範圍。根據本發明的文字、說明書內容，以及熟悉本領域技藝人士的常識，本發明所述的特徵，可做任意組合，只要該組合不會互斥者。此外，本發明所描述的特徵或其組合，可特定包含、複製，或排除在/從本發明任何實施例的任意組合。為了概述本發明的目的，本發明敘述或列舉出具體實施例、優點和新穎特徵。然而，在任何特定的實施態樣，或許不需要所述實施例的全部細節、優點和特徵。本發明其他的具體細節和優點將詳述如下。

【圖式簡單說明】

圖1顯示本發明一實施例之氣體灌注系統的簡化示意圖。

圖2顯示根據本發明一實施例的氣體灌注程序以冷卻並再升溫器官。

圖3顯示根據本發明一實施例，在如圖1的氣體灌注系統中的氣體灌注設備。

圖4顯示根據本發明一實施例的一氣體灌注設備，以深切冷卻一生物組織。

【實施方式】

【0023】 以下將詳述本案的各實施例，並配合圖式作為例示。在一些實施例中，圖中顯示的範例可依照比例，但在其他實施例中，不需要按照比例。在一些實施例中，相同或相似的元件符號可代表相同、相似，或類比的元件及/或元素，但在某些實施例中，也可以表示不同的元件。在一些實施例中，描述方向的名詞，例如上、下、左、右，往上，往下，之上，超過、上方、下方、後面、前面等可根據字面意義解釋，但在其他實施例中，也可以不根據字面意義解釋。本發明可實踐在不同的低溫防護與玻璃質化系統以及本領域所使用的其他技術，且為了使讀者了解本案的技術內容，一般的製程步驟和特徵，被提供於說明書內。本發明通常可應用於器官與組織的保存與程序等領域。

【0024】 本發明一實施例是為了相較於習知技術而言，確實延長器官保存的期限。例如，所延長的時間可以是數小時、數天或一星期，較佳地，可延長數個月或數年，使器官足夠做適當的醫療銀行(banking)，例如，可做血液產品或其他小組織，例如心閥(heart valve)、軟骨(cartilage)，和皮膚。根據本發明，如此新型式可靠的醫療銀行，允許世界移植市場做擴張供應，及/或在移植過程中，提供較好的結果。透過本發明，可做的改良及/或優點還包括，建立更好的免疫匹配(immunological matching)、手術時間的最佳化，例如，基於器官接受者的醫療情況。

【0025】 為了揭露的目的，在本文中，「器官」(organ)指的是任何具有脈管系統的生物組織，例如固體器官，例如，腎臟、肝臟、心臟、肺臟、胰腺(pancreas)、腦、皮膚、眼睛、肌肉、部分或全部的腸

道、肢或部分肢、生物人工器官、複製器官或培養器官、用於培養器官的去細胞基質(decellularized extracellular matrix)、用於培養器官(culturing organs)的人工腳手架(artificial scaffolding)，以及整個生物有機體(organism)。儲存這些器官的目的可包含治療疾病、置換損壞器官、改善生物有機體的功能、為了醫療目的延長生命或生存(animation)、太空旅行，或其他目的。

【0026】本發明一實施例提供一系統，利用氣體灌注(以氣體，而不是血液或其他流體，通過血管)，冷卻脈管生物組織，其中所使用的氣體包含氮氣、氫氣、氖氣、氬氣、氦氣、氙氣，及/或氧氣，且系統被操作在加壓下，以增加氣體的密度與比熱，而冷卻氣體的方式包含利用機械裝置，或者利用一物質，例如一低溫防護氣體或固體的相變化。

【0027】除了上述的氣體，也可以灌注其他任何氣體，只要其沸點遠低於0度C，例如，具有碳氫化合物的氣體，例如甲烷、乙烷、丙烷、與含氟的氣體，例如六氟化硫(sulfur hexafluoride)、氟碳化合物(fluorocarbons)、全氟化碳(perfluorocarbons)、氫氟碳化合物(hydrofluorocarbon)、氯氟碳化合物(chlorofluorocarbons)、氫氯氟碳化合物(hydrochlorofluorocarbons)。

【0028】參見圖1，其為根據本發明一實施例的氣體灌注系統。該系統的元件可提供一或多個流體被灌注，包含：一灌注儲槽1；一泵浦2取代心臟以運送流體；一熱交換器/和氧器(oxygenator)3，用於冷卻或加熱該流體和氧合作用(oxygenation)或其他氣體，以支持或減少新陳代謝；一動脈插管4或其他管柱4，可藉以進入器官或一動物或其他生物

組織5的脈管系統的動脈；一靜脈插管6，用於回收流體；一返回儲槽7；一返回管線8。

【0029】 本發明是有關於脈管組織、脈管器官、腦，或整個動物(包含人類)儲存於低溫。組織可被一低溫防護劑溶液(cryoprotectant solution)灌注，以減少或去除結冰。該溫度被維持低於該組織的玻璃轉移溫度(通常大約為-130度C)，藉儲存於此低溫，可延長保存物至少數十年，且不會大幅變壞。保存的目的之一，可以是為了移植目的的器官與組織銀行，或為了整個動物或人類的最終復活。

【0030】 組織、器官、和整個動物與人類，被儲存低於其玻璃轉移溫度，且被保護的方式，是將組織或被保存物中的一半以上的水，置換成下列一或多種成分或其組合：有機溶劑，該溶劑(例如甘油(glycerol)或二甲基亞砜(dimethyl sulfoxide))可滲透細胞膜；不滲透細胞膜的藥劑，例如聚合物；以及可直接預防從有核區(nucleating sites)結冰的物質，例如阻冰劑(ice blockers)。水分是以滲透的方式移進或移出細胞內，而低溫防護劑是以擴散的方式進入組織。低溫防護劑透過脈管系統而灌注，通常可以是，但不限於，透過在動脈或靜脈系統插管而進行，且利用一機械泵浦取代心臟的作用。在動物或人體，中央循環系統被插管在某些動靜脈的結合，包含主動脈、腔靜脈(vena cava)、頸動脈、頸靜脈、股動脈和股靜脈，如同實施體外循環手術(cardiopulmonary bypass surgery)一般，且使用相同的設備。

【0031】 一旦夠多的水被低溫防護劑置換而確保不會結冰，組織、器官，或生物有機體被置放在一個冷的環境中，以冷卻其外部，及/或灌注冷的低溫防護劑或其他溶液，使其冷卻。本步驟的低溫防護劑也可以

用貴氣體(noble gas)或惰性氣體取代，這些氣體在遠低於玻璃轉移溫度，或者在低到如液態氮的溫度時，也不會進行相變化。這樣的氣體，可包含但不限於，氫氣、氦氣、氬氣、氖氣、氦氣、氦氣。

【0032】透過置換脈管系統的體積(從5%至10%的組織、器官、或整個生物組織體)，創造出「破碎空間(crush space)」，可透過小規模塑膠變形而釋放應力。如此可減少破壞的區域尺寸(domain size)，且有效減少表面積與(整個人體的)體積的比例，降低至數立方公分的固體的比例，實驗中樣本的尺寸已經被冷卻至液態氮的溫度，且沒有產生破壞。此外，任何破壞的產生，無法繼續發生在相鄰的毛細血管或血管，這就好像泡沫的金屬與泡沫的矽酸鹽玻璃所顯示的破壞阻抗。利用血管冷卻，而不是表面冷卻器官，使得溫度梯度的降低，位於整個器官，如此更提供降低破壞的可能性。在以豬腎臟的實驗中，已經驗證大的破壞被去除，降低至至少毫米等級。

【0033】一旦惰性氣體取代脈管系統中的低溫防護劑，組織、器官、或生物組織體可被冷卻至低於玻璃轉移溫度的一極低溫防護溫度，如液態氮或者液態氮的溫度。冷卻可透過氣體灌注及/或一冷卻氣體或液體進行表面冷卻。在進行冷卻時，可以略高於玻璃轉移溫度的一溫度，進行一段時間的退火(annealing)。

【0034】一旦冷卻至遠低於玻璃轉移溫度後，系統變成穩定，並維持狀態在數十年或數百年。

【0035】圖2顯示根據本發明實施例的氣體灌注方法，以冷卻和升溫器官。關於氣體灌注冷卻，這種熱萃取方法，由於氣體的低體積比

熱，單獨使用可以是困難的或次佳的。利用氣體灌注，其氣體流量可以是液體(具有200倍低黏度)流量的200倍，而體積比熱小於液體的體積比熱1000倍，使得灌注時的冷卻速率僅有液體灌注的1/5。

【0036】 本發明的特徵之一，是以高於大氣壓的壓力，進行氣體灌注，以增加氣體的密度。只要壓力的增加不會造成氣體的相變化，則此氣體密度的增加，不會增加氣體的黏度，因此氣體的體積流量可以維持相同。

【0037】 由於在高壓下進行氣體灌注，氣體的比熱可被有效增加，藉此冷卻速率會根據壓力增加的比例而增加。既然人類可在20至60倍大氣壓力的海洋潛水或實驗的陸地上存活與工作，器官自然也可在此高壓下存活。

【0038】 在高壓下的氣體灌注，也可比習知液體灌注的冷卻速率快。習知灌注程序必須使用一低溫液體，當溫度降低時，其黏度增高。相較之下，氣體灌注時，當溫度降低，氣體的黏度會降低，使得低溫時，更容易進行氣體灌注。此外，液體化合物在低溫防護溫度時，具有環境問題、生物毒性、昂貴等缺點，而氣體灌注所使用的惰性氣體，並未具有這些問題。

【0039】 氣體灌注的冷卻速率，對於玻璃質化器官，可以是每分鐘幾度C，或者比表面冷卻速率快10至100倍。因此，在冷卻時造成的毒性損壞，可降低10至100倍。

【0040】 為了進行移植，當器官從儲存環境中移出，並進行升溫，可能會發生低溫防護劑毒性損壞和破壞。通常在玻璃質化器官，升溫的速率會大於降溫的速率，以避免結冰。為達成此目的，升溫程序可伴隨

照紅外光、射頻輻射(radio frequency radiation)、微波輻射，和超音波。在過去，這些方法會導致過熱點(hot spot)或者因為不均勻受熱而脫離控制(runaway heating)。然而，氣體灌注可重新分配輻射熱，使器官均勻受熱，避免過熱點與溫度不均。

【0041】 當器官升溫至足夠的溫度，則可用低溫防護

劑(cryoprotectant)灌注器官，接著以如同低溫防護劑加入的方式，移除低溫防護劑，但灌注時逐漸降低低溫防護劑的濃度。一旦移除全部或大部分的低溫防護劑，器官可以血液或血液替代物(blood substitute)，再移植入受體。

【0042】 本發明實施例可包含下列特徵的變更(permutation)、疊代(iteration)，及/或重複(repetition)，或任意組合：利用化學低溫防護劑與一惰性氣體的氣體灌注，將玻璃質化器官長期儲存在或低於玻璃轉移溫度。低溫防護劑可以是任何液體或氣體，當其在一器官或組織中，取代部分或全部的水分，可抑制冰結晶的形成。器官或組織可以是任何器官或生物組織，具有天生或人工的脈管系統。惰性氣體包含但不限於，氫氣、氮氣、氬氣、氦氣、氖氣、氫氣、氫氣、碳氫化合物、六氟化硫(sulfur hexafluoride)、氟碳化合物(fluorocarbons)、全氟化碳(perfluorocarbons)、氫氟碳化合物(hydrofluorocarbon)、氯氟碳化合物(chlorofluorocarbons)、氫氯氟碳化合物(hydrochlorofluorocarbons)，或上述氣體的混合。

【0043】 本發明其他實施例可包含下列特徵的變更(permutation)、疊代(iteration)，及/或重複(repetition)，或任意組

合：以硫化氫(hydrogen sulphide)、一氧化碳，或其他可減少新陳代謝的氣體，與一惰性氣體混合後，再灌注低溫防護的器官或組織。非惰性氣體，例如氧氣或二氧化碳，可用來支持或調整新陳代謝。當灌注氣體使冷卻至玻璃轉移溫度或以下，脈管系統充滿氣體。如此可避免破壞的形成，而且任何破壞的形成會即刻受到限制。在高壓的條件下灌注氣體，會增加氣體的比熱，使得相較於大氣壓力時，具有更快的冷卻與升溫速率。以低於器官溫度的氣體進行灌注，可很快冷卻器官。以高於器官溫度的氣體進行灌注，可很快的升溫器官。氣體灌注可以減少在器官或組織內部的溫度梯度、降低熱-力破壞，改善生存力。器官或組織可以同時以惰性氣體或液體灌注，加上表面冷卻。在冷卻與升溫過程中，器官或組織可在稍微高於玻璃轉移溫度下維持一段時間，以進行回火並釋放應力。

【0044】 接續前述實施例，其可再包含下列特徵的變更(permutation)、疊代(iteration)，及/或重複(repetition)，或任意組合：冷卻與升溫一器官或組織，而快速降低低溫防護劑的毒性，以及改善器官或組織的生命力。灌注溫暖的惰性氣體，再結合射頻電療(radio frequency diathermy)、微波電療(microwave diathermy)、超音波加熱，或紅外線加熱，以增加升溫速率。灌注溫暖的氣體，再結合射頻電療、微波電療、超音波加熱，或紅外線加熱，以改善外部加熱的均勻性，並減少由於單獨使用射頻電療、微波電療、超音波加熱，或紅外線加熱，造成的過熱點。

【0045】 氣體灌注裝置

【0046】 一旦從捐贈者身上移除器官，血液會流出，器官被冷卻到

非常低的體溫溫度(hypothermic temperature)，必須進行低溫防護。此可藉由灌注包含不同濃度低溫防護劑的似血溶液(具有鹽、糖、和膠體)至脈管系統內而達成。

【0047】 相較於圖1顯示的簡化版，圖3顯示根據本發明另一實施例更典型的氣體灌注設備。

【0048】 利用計量泵3添加濃縮的低溫防護劑1，以調整迴路中的低溫防護劑濃度。藉由計量泵4添加灌注流體2，以減少低溫防護劑的濃度。上述添加是實施在迴路，其包含循環泵6、熱交換器9，和靜態混合器8。靜態混合器8確保添加的灌注流體2或低溫防護劑1被均勻的混合後，再進入灌注儲槽5，而熱交換器9可以保持灌注儲槽5的內容物在一適當的溫度。在進入灌注儲槽5前，感應器18可驗證混合物的濃度。一開始的時候，濃度是低的，然後逐漸增加，以避免對器官造成滲透損壞(osmotic damage)。當器官中低溫防護劑的濃度足夠高，使得器官在低到-130度C時不會結冰，將器官移到氣體灌注設備以進行深度冷卻(參見圖4)。

【0049】 當器官從儲存至復活，則執行相反的程序。器官被灌注溫暖的氣體，使之可適於執行灌注。首先灌注一高濃度的低溫防護劑，然後逐漸降低低溫防護劑的濃度，直到全部或大部分的低溫防護劑被移除。

【0050】 灌注低溫防護劑，是由在器官的主動脈插管13開始，插管13連接到灌注設備，使得灌注流體可以流進主動脈。器官被放置在碟上，並藉由泵或重力將流體送回灌注儲槽5。灌注儲槽5的流體從管線流

出，動脈泵10將灌注流體運送到熱交換器/和氧器11，以控制低溫防護劑的溫度以及溶於其中的氣體，感應器12確認流進器官的低溫防護劑濃度，感應器15透過靜脈插管或重力流(gravity feed)，監測離開器官的低溫防護劑的濃度，流出的流體再流進灌注儲槽5或廢棄儲槽17。

【0051】為了維持灌注儲槽5的水位並逐漸移除使用過的灌注流體，計量泵16用於從灌注儲槽5中移除流體。使用電腦控制舊灌注流體與新灌注流體的加成，根據程式控制其中低溫防護劑的濃度。三向閥21用於控制低溫防護劑的流向，流向器官14、返回灌注儲槽5，或者同時流向器官14與灌注儲槽5。濃度感應器12/15/18測量迴路中的低溫防護劑的濃度。電腦計算計量泵的適當流量，以達成所需的低溫防護劑的濃度。濃度感應器的原理，可利用折射率、聲速、黏度、紅外光譜、上述方法或其他方法的組合。

【0052】低溫防護劑以及所添加灌注流體的總量，是由計量泵3/4與濃度感應器18、添加於系統的低溫防護劑和水的總量，以及被移除水分的總量所決定。秤重器20用於計算在器官中低溫防護劑的絕對濃度。電腦可即時顯示、繪出，並紀錄相關圖表。秤重器19用於監控回收的低溫防護劑。

【0053】熱交換器/和氧器11與熱交換器9都是流體/流體式的熱交換，可具有散熱器或熱源，或機械循環式冰凍器(chiller)提供冷媒。

【0054】本發明另一實施例提供一灌注設備。圖3說明舉例根據本發明一實施例的灌注設備。

【0055】所述的灌注設備包含下列元件。

【0056】1.濃縮低溫防護劑儲槽：灌注流體具有一玻璃質化溶液其

濃度等於或大於所需玻璃質化的目標濃度。

【0057】 2.基本灌注流體儲槽：儲存灌注流體，不具有任何低溫防護劑。

【0058】 3.低溫防護劑計量泵：在電腦控制下，給予添加一定量的濃縮低溫防護劑。

【0059】 4.基本灌注流體計量泵：在電腦控制下，給予添加一定量的基本灌注流體。

【0060】 5.灌注流體儲槽：儲備用於輸入器官內的低溫防護劑的混合物。

【0061】 6.循環泵：將儲槽5底部的流體再打入儲槽頂部，以保持流體混合均勻。

【0062】 7.滅菌過濾器：利用過濾移除進入器官前之灌注流體的污染物。

【0063】 8.靜態混合器：一種精確的工程裝置，連續混合從計量泵3和計量泵4流出的流體。

【0064】 9.熱交換器：一流體/流體熱交換器，用於冷卻或升溫從一液體熱源或冷卻器/加熱器流出的灌注流體。

【0065】 10.動脈泵：將灌注流體從儲槽5中移動至器官14的脈管系統。

【0066】 11.熱交換器/和氧器：一種液體/液體熱交換器與薄膜和氧器的結合，用於控制灌注流體的溫度，並增加或移除溶於其中的氧氣或其他氣體，以支持新陳代謝。

【0067】 12.濃度感應器：一種線上感應器，在灌注流體進入器官之前，測量其中低溫防護劑的濃度。所測數據被回饋用來控制泵3、4、6、10。

【0068】 13.動脈插管：利用手術造管連接至動脈，以供輸血液或低溫防護劑等流體至器官14。

【0069】 14.被玻璃質化和低溫防護的器官。

【0070】 15.濃度感應器：一種線上感應器，用於在灌注流體通過器官後，測量其中的低溫防護劑濃度。所測數據被回饋用來控制泵3、4、6、10。

【0071】 16.回收泵：以電腦控制的計量泵，從迴路中移除一測量體積的灌注流體，以維持儲槽中流體的水位，其由於計量泵3和4持續添加灌注流體於其中。

【0072】 17.用於移除灌注流體的儲存/廢棄儲槽。

【0073】 18.濃度感應器：一種線上感應器，用於測量在主樣迴路中低溫防護劑的濃度。所測數據被回饋用來控制泵3、4、6。

【0074】 19.秤重器：用於測量所移除灌注流體的質量。連同濃度感應器22所測的數據資料，決定器官中低溫防護劑的濃度。

【0075】 20.秤重器：用於測量從添加低溫防護劑和移除水分器官14中的質量變化。

【0076】 21.三向閥：使低溫防護劑流向玻璃質化器官14、儲槽5，或上述兩者。

【0077】 22.濃度感應器：一種線上感應器，用於決定回收灌注流體中低溫防護劑的濃度。

【0078】 氣體灌注裝置

【0079】 參見圖4，其顯示本發明一實施例的氣體灌注設備，包含：氣體供應1、壓力調節器2、閥3、氣體供應儲槽4、壓力釋放閥5、排放閥6、閥7、氣體壓縮機8、氣體返回儲槽9、壓力釋放閥10、排放閥11、三向閥12、三向閥13、脈管氣體供應管線14、壓力槽環境氣體供應管線15、氣體返回管線16、流量控制器電腦連接17、脈管氣體流量控制器18、流量控制器電腦連接19、環境氣體流量控制器20、精確背壓調整器21、逆流熱交換器22、溫度控制轉向閥，伺服機構23、伺服閥電腦連接24、溫度控制轉向閥，伺服機構25、溫度控制轉向閥，伺服機構26、冷卻散熱器的蛇管27、散熱器的蛇管28、冷卻散熱器的蛇管29、散熱器的蛇管30、三向閥31、四向閥32、三向閥33、壓力釋放閥34、壓力槽35、壓力槽窗36、(器官、組織或其他材料)37、射頻電療天線38、器官護架39、環境氣體擴散器40、環境氣體攪拌風扇41、微壓感應器42、絕對壓力感應器43、器官溫度感應器44、射頻電療產生器45。

【0080】 一旦低溫防護完成(定義為以低溫防護達到所需玻璃質化的濃度)，器官或其他具有脈管系統的生物組織37被置放於一高壓槽35，其內可包含壓力高至60大氣壓的氣體。此壓力槽35具有一窗36用於觀察器官，以及具有為了安全考量的壓力釋放閥34。器官被插管在動脈或靜脈(依照需求是前進(prograde)或倒退(retrograde)而定)或兩者，並且連接溫度感應器44。插管穿過壓力槽35的牆，以連接氣體灌注設備的其他部分。

【0081】 為了準備系統，使用氮氣或其他惰性氣體源填充氣體供應

儲槽4，其壓力高於在壓力槽35所需的壓力。氣體供應儲槽4在適當的地方具有安全機構，包含壓力釋放閥5和排放閥6。惰性氣體流經壓力調節器2，並由閥3控制流量。

【0082】離開氣體供應儲槽4後，氣體會通過三向閥12，使氣體流向器官37或者透過另一個三向閥13旁流流回氣體返回儲槽9。氣體返回儲槽9也在適當位置具有安全性機構，包含壓力釋放閥10與排放閥11。離開氣體返回儲槽9，氣體流過一氣體壓縮機8。氣體壓縮機8被調整，以維持氣體供應儲槽4的壓力，高於壓力槽35的壓力，以及維持氣體返回儲槽9的壓力，低於壓力槽35的壓力。另一個閥7用於調節當壓縮氣體被傳輸至氣體供應儲槽4。

【0083】當氣體由氣體供應儲槽4流向器官37，氣體通過脈管氣體供應管線14和壓力槽環境氣體供應管線15。每一上述管線具有被電腦控制17/20的流量控制器18/19。逆流熱交換器22冷卻惰性氣體後，氣體接著至三向閥23/25。藉由控制加熱蛇管28/30和冷卻蛇管27/29的流量比，控制惰性氣體的溫度。氣體的流動是透過電腦控制伺服閥24/26動作而控制。氣體接著通過三向閥31/32，以直接流進壓力槽35與器官37。

【0084】一支流(bypass)管線使得氣體可從脈管氣體供應管線14、壓力槽環境氣體供應管線15或上述兩者分出，流進氣體返回管線16。這支流管線具有閥31/32/33。

【0085】為了氣體灌注器官，切換三向閥31，使其流過連接腎臟的插管。通過腎臟的流量可透過手動或電腦控制，基於流量計31的流量，或由壓力感應器43所測插管與壓力槽的壓力差，而調整閥23。

【0086】流動的溫度是由下列決定：轉向閥23，閥31的流量，由壓

力調整器21得到的壓力槽壓力。壓力槽本身具有幾個必須的特徵，以在冷卻與升溫期間，支持氣體灌注。在槽內的射頻電療天線38可幫助器官37的再升溫，這些天線會接收射頻電療產生器45的訊號。在高壓槽35內還具有器官護架39；連接環境氣體供應管線15的環境氣體擴散器40；環境氣體攪拌風扇41；以及多個環境與器官溫度監測器44，和多個環境與器官壓力監測器43以及微壓感測器42。

【0087】根據本發明一些實施例的一種程序可包含以下一或多個步驟：從一捐贈者獲得一器官或組織。以一血液替代物清洗器官的脈管系統。透過脈管系統、擴散，或同時透過脈管系統和擴散，灌注一低溫防護劑使器官玻璃質化。低溫防護劑的濃度，在一數分鐘至數小時的期間，被慢慢增加至一濃度使得器官玻璃質化並避免滲透應力(osmotic stress)。在大氣壓力下以一惰性氣體灌注器官。接著根據需求，調整灌注氣體。如果為了抑制新陳代謝，灌注該惰性氣體加上可抑制新陳代謝的氣體，例如硫化氫(hydrogen sulfide)或一氧化碳；反之則灌注惰性氣體加上氧氣或二氧化碳，以增加新陳代謝。器官被放置於壓力槽內，以增加灌注氣體的壓力與密度。氣體的溫度被降低至低於器官的溫度，以冷卻器官。以攪動的冷卻氣體或液體將器官進行外部冷卻。器官的溫度被維持在略高於玻璃轉移溫度一段時間，以進行回火並釋放應力。

【0088】本發明實施例可再包含一或多個下列步驟：以氣體灌注及/或外部冷卻，使器官冷卻至一低於其玻璃轉移溫度的最終儲存溫度。器官或組織被維持在最終儲存溫度於一不確定的期間。此期間可包含數天、數星期、數年、數十年，或更長。

【0089】一旦器官從儲存中移出，可利用氣體灌注及/或外部升溫，使器官的溫度略高於其玻璃轉移溫度。器官可維持在這個溫度或大約這個溫度一段時間，以進行回火並釋放應力。

【0090】根據本發明一實施例，通常，利用氣體灌注及/或攪動氣體或液體進行外部升溫，使其溫度上升至可灌注移除低溫防護劑。射頻電療、微波電療、超音波加熱，或紅外線加熱，可結合氣體灌注和表面升溫，以增加升溫的均勻性和速度。可根據指示或需要，灌注一惰性氣體以及一或多個抑制新陳代謝的氣體(例如硫化氫或一氧化碳)及/或增加新陳代謝的氣體(例如氧氣或二氧化碳)。

【0091】一旦達到所需的溫度，施在器官或組織的高壓可被移除，較佳者為逐漸及/或足夠地移除，以避免在組織或器官中的彎曲處產生氣栓(gas emboli)。組織中的脈管系統，接著可灌注低溫防護劑，取代脈管中的氣體。灌注時，低溫防護劑的濃度可逐漸降低，以便於移除器官或組織中的低溫防護劑。

【0092】根據本發明實施例，通常，全部的低溫防護劑被移除，移除後再根據決定、需要或指示，器官或組織再被灌注，例如，溫暖的血，或似血的人造溶液，及/或新陳代謝幫助物或抑制物。在此步驟及/或先前一個步驟的器官或組織，可再被進行另外的程序，例如移植入一個受贈者。

【0093】本說明書所揭露的每個/全部實施例，本領域熟悉技藝人士可據此做各種修飾、變化、結合、交換、省略、替代、相等變化，只要不會互斥者，皆屬於本發明的概念，屬於本發明的範圍。可對應或與本案所述實施例特徵相關的結構或方法，及/或發明人或受讓人任何申請

中、放棄，或已核准的申請案，皆併入本文，視為本案說明書的一部分。所併入的部分，包含其對應、相關及其修飾的部分或全部，(1)可操作的及/或可建構的(2)根據熟悉本領域技藝人士修飾成可操作的及/或可建構的(3)實施/製造/使用或結合本案說明書、本案相關申請案，以及根據熟悉本領域技藝人士的常識和判斷的任何部分。

【0094】除非特別說明，一些條件句或字詞，例如「可以(can)」、「可能(could)」、「也許(might)」，或「可(may)」，通常是試圖本案實施例具有，但是也可以解釋成可能不需要的特徵、元件，或步驟。在其他實施例中，這些特徵、元件，或步驟可能是不需要的。

【0095】本文前述的文件，其內容皆併入本文，視為本案說明書的一部分。本發明提供的實施例，僅作為例示，不是用於限制本發明的範圍。本發明所提到的特徵或其他特徵包含方法步驟與技術，可與相關申請案所述的特徵或結構做任何結合或變更，部分的或全部的，其可視為本案不等的、分開的、不可替代的實施例。本發明所揭露的特徵與方法其對應或相關者，包含可從文中導出不互斥者，以及熟悉本領域技藝人士所做修飾者，其部分或全部，可以是(1)可操作的及/或可建構的(2)根據熟悉本領域技藝人士的知識修飾成可操作的及/或可建構的(3)實施/製造/使用或結合本案說明書的任何部分，包含(I)本發明或相關結構與方法的任何一個或更多部分，及/或(II)本發明所述任何一或多個發明概念及其部分的內容的任何變更及/或組合，包含所述任何一或多個特徵或實施例的內容的任何變更及/或組合。

【符號說明】

圖1

- 1 灌注儲槽
- 2 泵浦
- 3 熱交換器/和氧器
- 4 動脈插管/管柱
- 5 動物/生物組織
- 6 靜脈插管
- 7 返回儲槽
- 8 返回管線

圖3

- 1 低溫防護劑
- 2 灌注流體(儲槽)
- 3 計量泵
- 4 計量泵
- 5 灌注儲槽
- 6 循環泵
- 7 滅菌過濾器
- 8 靜態混合器
- 9 熱交換器
- 10 動脈泵
- 11 熱交換器/和氧器
- 12 感應器

- 13 插管
- 14 器官
- 15 感應器
- 16 計量泵
- 17 廢棄儲槽
- 18 感應器
- 19 秤重器
- 20 秤重器
- 21 三向閥

圖4

- 1 氣體供應
- 2 壓力調節器
- 3 閥
- 4 氣體供應儲槽
- 5 壓力釋放閥
- 6 排放閥
- 7 閥
- 8 氣體壓縮機
- 9 氣體返回儲槽
- 10 壓力釋放閥
- 11 排放閥
- 12 三向閥

- 13 三向閥
- 14 脈管氣體供應管線
- 15 壓力槽環境氣體供應管線
- 16 氣體返回管線
- 17 流量控制器電腦連接
- 18 脈管氣體流量控制器
- 19 流量控制器電腦連接
- 20 環境氣體流量控制器
- 21 精確背壓調整器
- 22 逆流熱交換器
- 23 溫度控制轉向閥，伺服機構23
- 24 伺服閥電腦連接
- 25 溫度控制轉向閥，伺服機構
- 26 溫度控制轉向閥，伺服機構
- 27 冷卻散熱器的蛇管
- 28 散熱器的蛇管
- 29 冷卻散熱器的蛇管
- 30 散熱器的蛇管
- 31 三向閥
- 32 四向閥
- 33 三向閥
- 34 壓力釋放閥
- 35 壓力槽

36 壓力槽窗

37 器官、組織或其他材料

38 射頻電療天線

39 器官護架

40 環境氣體擴散器

41 環境氣體攪拌風扇

42 微壓感應器

43 絕對壓力感應器

44 器官溫度感應器

45 射頻電療產生器

申請專利範圍

【發明申請專利範圍】

【第1項】一種利用高壓氣體灌注為了冷卻儲存或保存玻璃質化生物組織但避免其破壞的方法步驟組合，包含：增加一或多個冷卻與升溫速率，其速率高於相對於大氣壓力下執行的速率。

【第2項】一種系統元件的組合，適於利用氣體灌注脈管系統以冷卻脈管生物組織，其中該系統被建構、提供、以及構造，以使用一氣體包含下列之一或其組合：氮氣、氫氣、氬氣、氦氣、氖氣、氫氣、氫氣、氧氣、碳氫化合物、六氟化硫(sulfur hexafluoride)、氟碳化合物(fluorocarbons)、全氟化碳(perfluorocarbons)、氫氟碳化合物(hydrofluorocarbon)、氯氟碳化合物(chlorofluorocarbons)，以及氫氯氟碳化合物(hydrochlorofluorocarbons)，該系統被操作在一壓力下以增加相對於大氣壓力下的氣體密度，並以一或多個機械動作或一物質例如一低溫防護氣體或液體的相變化，冷卻該氣體。

【第3項】如申請專利範圍第1項或第2項的方法或系統組合，及/或任何一或多個其他請求項所述的步驟或元件其未造成互斥的任意結合與變更，其中：

透過利用一化學低溫防護劑與一惰性氣體灌注使玻璃質化器官或生物組織長期儲存在低於玻璃轉移溫度；及

該化學低溫防護劑是任何液體或氣體，當取代該器官或生物組織中的部分或全部的水，可本質上或完全抑制結冰。

【第4項】如申請專利範圍第1項或第2項的方法或系統組合，及/或任何一或多個其他請求項所述的步驟或元件其未造成互斥的任意結合與

變更，其中該器官或生物組織是具有天生或人造脈管系統的任何器官或生物組織。

【第5項】如申請專利範圍第1項或第2項的方法或系統組合，及/或任何一或多個其他請求項所述的步驟或元件其未造成互斥的任意結合與變更，其中包含一惰性氣體選自下列氣體的其中之一或其混合或其順序組合：氫氣、氮氣、氫氣、氖氣、氬氣。

○ 【第6項】如申請專利範圍第1項或第2項的方法或系統組合，及/或任何一或多個其他請求項所述的步驟或元件其未造成互斥的任意結合與變更，其中該器官或生物組織被低溫防護，該方法包含將低溫防護的該器官或生物組織，灌注一惰性氣體以及硫化氫(hydrogen sulfide)或一氧化碳的混合物，以減少新陳代謝。

【第7項】如申請專利範圍第1項或第2項的方法或系統組合，及/或任何一或多個其他請求項所述的步驟或元件其未造成互斥的任意結合與變更，其中藉此一或多個非惰性氣體包含氧氣或二氧化碳是用於支持或調整新陳代謝。

○ 【第8項】如申請專利範圍第1項或第2項的方法或系統組合，及/或任何一或多個其他請求項所述的步驟或元件其未造成互斥的任意結合與變更，其中包含當進行氣體灌注，使該器官或生物組織被冷卻至玻璃轉移溫度以下時，該脈管系統被充滿氣體。

【第9項】如申請專利範圍第8項的方法或系統組合，其中藉此可大幅避免大破壞的形成，且任何大破壞的開端其傳遞被減少。

【第10項】如申請專利範圍第1項或第2項的方法或系統組合，及/或任何一或多個其他請求項所述的步驟或元件其未造成互斥的任意結合與

變更，其中在高壓下進行氣體灌注，使得該氣體的體積比熱被增加。

【第11項】如申請專利範圍第1項或第2項的方法或系統組合，及/或任何一或多個其他請求項所述的步驟或元件其未造成互斥的任意結合與變更，其中該氣體灌注是以低於該器官或生物組織溫度的氣體進行灌注，藉此快速冷卻該器官或組織，且氣體灌注冷卻可減少該器官或組織內部的溫度梯度，如此可減少該器官或組織的一或多個熱-力破壞並改善生存力。

【第12項】如申請專利範圍第1項或第2項的方法或系統組合，及/或任何一或多個其他請求項所述的步驟或元件其未造成互斥的任意結合與變更，其中該氣體灌注是以高於該器官或生物組織溫度的氣體進行灌注，且氣體灌注升溫可減少該器官或組織內部的溫度梯度，如此可減少該器官或組織的一或多個熱-力破壞並改善生存力。

【第13項】如申請專利範圍第1項或第2項的方法或系統組合，及/或任何一或多個其他請求項所述的步驟或元件其未造成互斥的任意結合與變更，其中同時利用該氣體灌注，以及以惰性氣體或液體，對該器官或組織進行內部與外部冷卻。

【第14項】如申請專利範圍第1項或第2項的方法或系統組合，及/或任何一或多個其他請求項所述的步驟或元件其未造成互斥的任意結合與變更，其中該器官或組織在一或多個冷卻或升溫的期間，被維持在接近玻璃轉移溫度，以進行一或多個回火並釋放應力。

【第15項】如申請專利範圍第1項或第2項的方法或系統組合，及/或任何一或多個其他請求項所述的步驟或元件其未造成互斥的任意結合與

變更，其中該器官或組織的冷卻或升溫速率快到足以降低或避免低溫防護劑的毒性，以改善該器官或組織的生存力。

【第16項】如申請專利範圍第1項或第2項的方法或系統組合，及/或任何一或多個其他請求項所述的步驟或元件其未造成互斥的任意結合與變更，其中該氣體灌注灌注一溫暖的惰性氣體，並結合下列一或多種加熱方式以增加升溫速率：射頻電療、微波電療、超音波加熱、紅外線加熱。

○ 【第17項】申請專利範圍第16項的方法或系統組合，藉此該灌注溫暖惰性氣體結合射頻電療、微波電療、超音波加熱，或紅外線加熱改善外部加熱的均勻性，並改善由於單獨使用射頻電療、微波電療、超音波加熱、紅外線加熱造成的過熱點。

【第18項】如申請專利範圍第1項或第2項的方法或系統組合，及/或任何一或多個其他請求項所述的步驟或元件其未造成互斥的任意結合與變更，其中該器官或組織是一器官。

○ 【第19項】如申請專利範圍第1項或第2項的方法或系統組合，及/或任何一或多個其他請求項所述的步驟或元件其未造成互斥的任意結合與變更，其中該器官或組織是一整個生物體。

【第20項】如申請專利範圍第1項或第2項的方法或系統組合，及/或任何一或多個其他請求項所述的步驟或元件其未造成互斥的任意結合與變更，其中該系統的結構，透過將氣體而不是血液或其他灌注流體輸入血管，以冷卻脈管生物組織。

【第21項】一種系統，用於操作申請專利範圍請求項1的方法及/或任何一或多個其他請求項所述的方法及/或系統其未造成互斥的任意結合

與變更。

【第22項】一種方法，用於操作申請專利範圍請求項2的系統及/或任何一或多個其他請求項所述的方法及/或系統其未造成互斥的任意結合與變更。

【第23項】如申請專利範圍第1項或第2項的方法或系統組合，及/或任何一或多個其他請求項所述的步驟或元件其未造成互斥的任意結合與變更，其中該氣體包含下列氣體的一或多個：氮氣、氫氣、氬氣、氦氣，與氧氣。

圖式

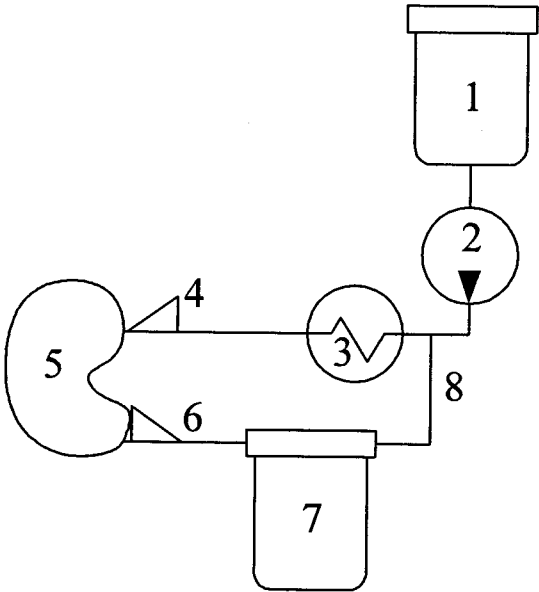


圖1

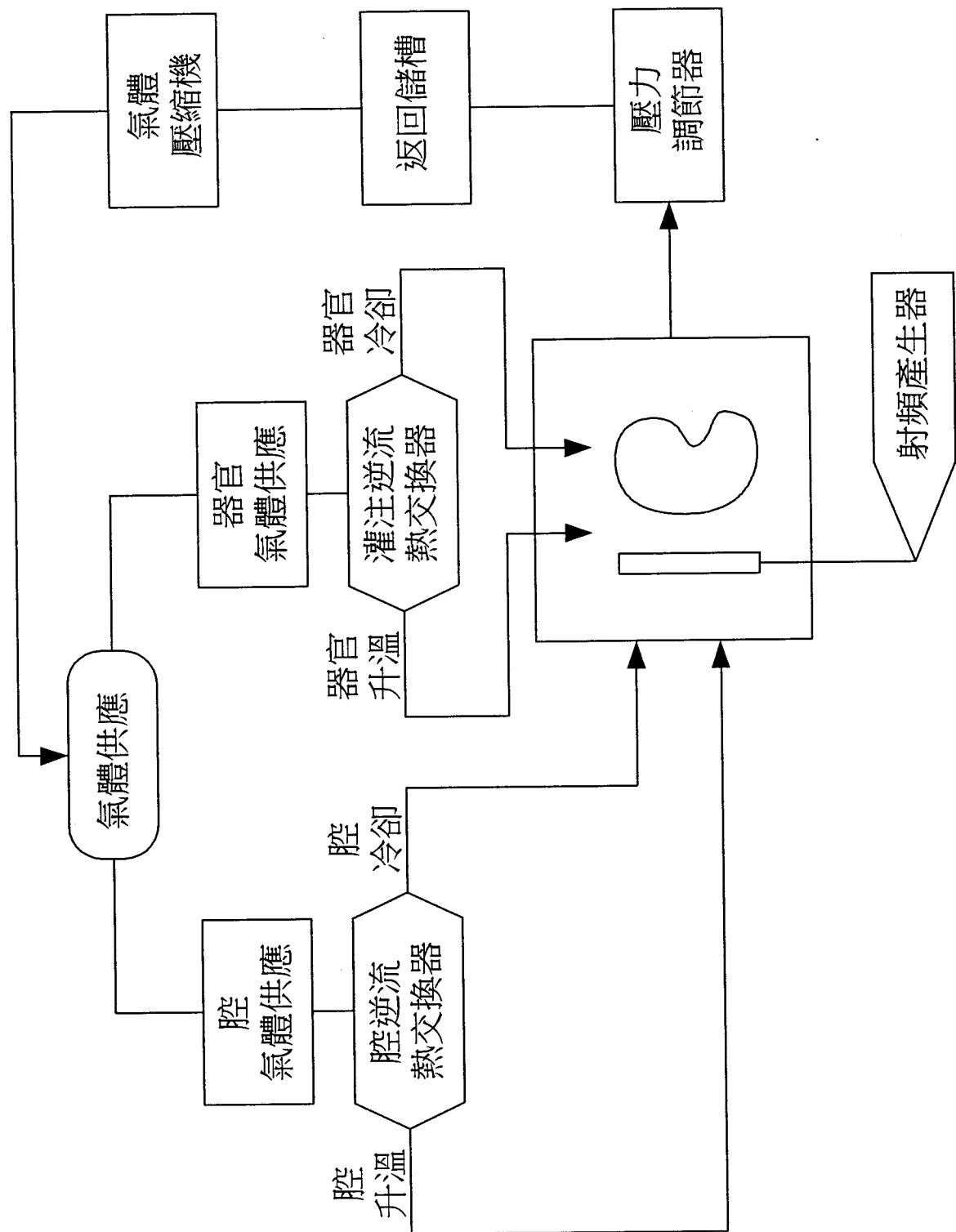


圖2

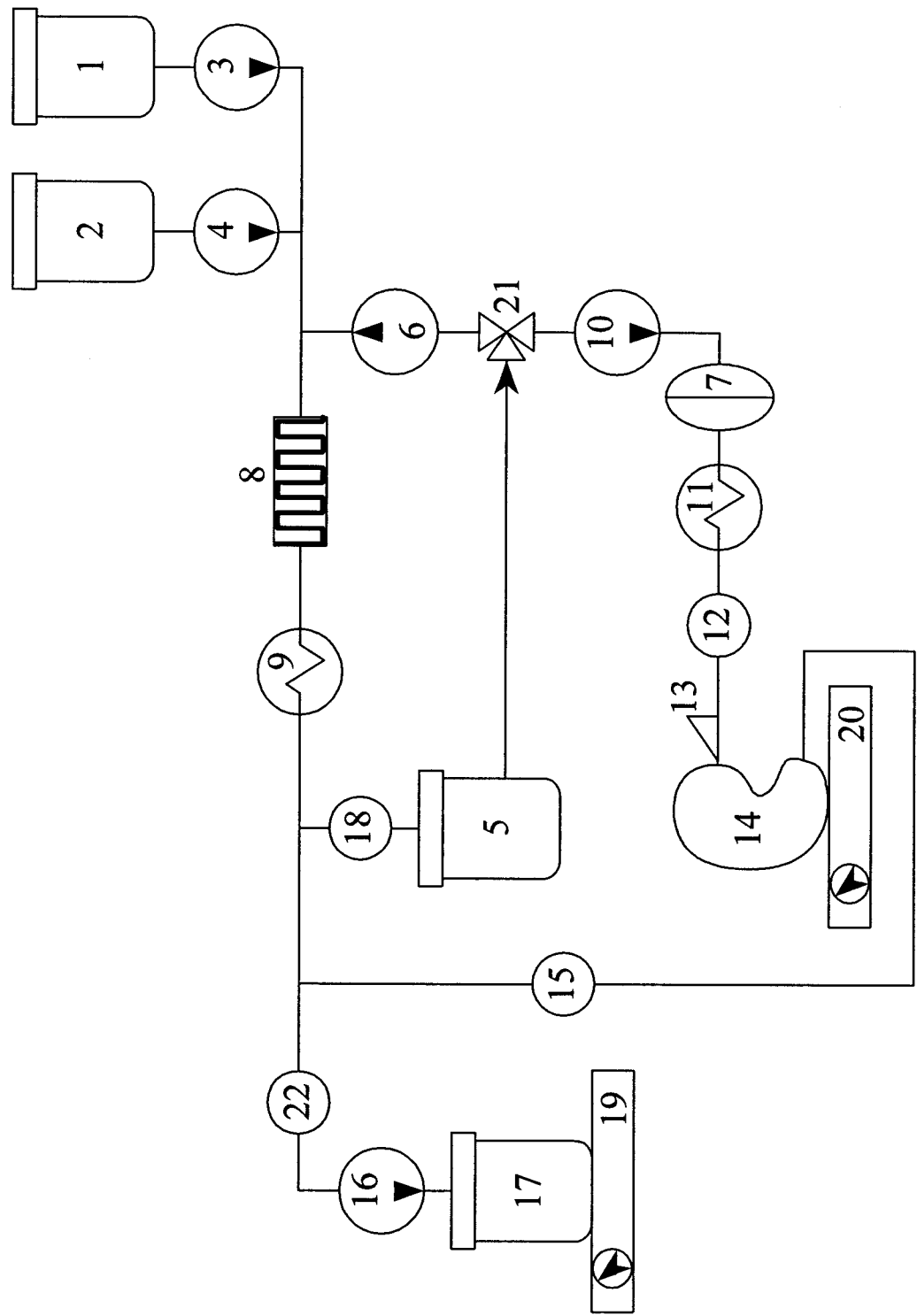


圖3

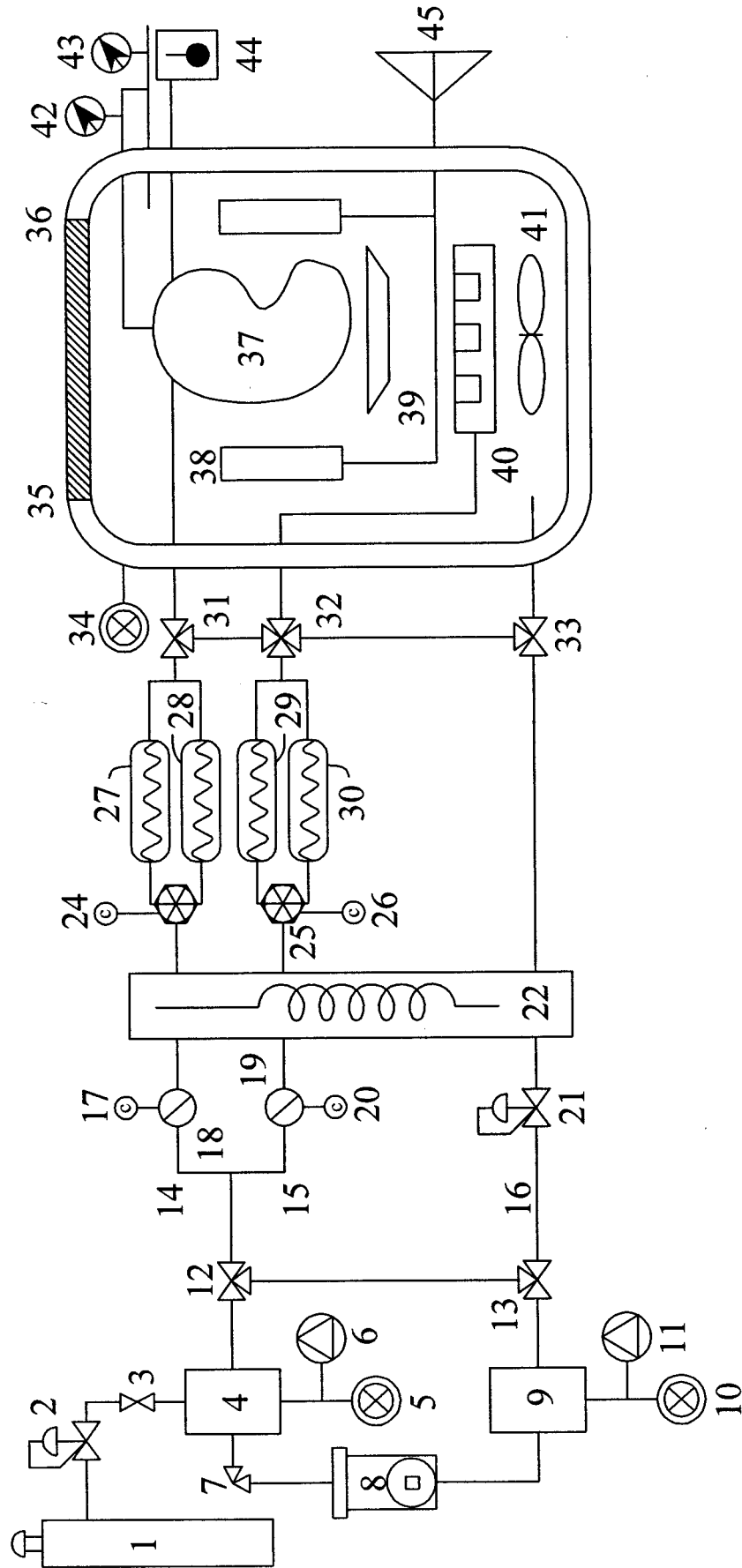


圖4